

## ANALISIS PROTEIN DAN ASAM AMINO NATTO, MAKANAN FERMENTASI KEDELAI KUNING OLEH *BACILLUS SUBTILLIS* NATTO

Sahirman<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Ilmu Pangan Halal, Universitas Djuanda  
Email : sahir17hirman@gmail.com

### ABSTRACT

*This Research aims to analyze crude protein and amino acid profile of natto from yellow soybeans from Vedca Cianjur. Protein analysis was performed using the Semi-micro Kjeldahl method, while amino acid analysis was performed using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Analysis of natto paste shows that natto contains an average of 22.1% crude protein and an average amino acid content of 14.46%. The results of the analysis of 15 average amino acids in Natto with HPLC showed that amino acids consist of 7 types of essential amino acids and 8 essential amino acids. The percentage of fresh weight of essential amino acids are Histidine (0.46% wb), Leucine (1.25% wb), Threonine (0.59%wb), Valine (0.81% wb), Methionine (0.13% wb), Isoleucine (0,76% wb), Fenilalanine (0.87% wb) and 8 non-essential amino acids are Serine (0.72% wb), Aspartic Acid (1.89%), Arginine (0.91%), Lysine (0.83% ), Glutamine (3.62%), Glycine (0.65%), Alanin (0.67%), and Tyrosine (0.3% wb). Glutamine is the highest level of amino acids (3.62% wb), followed by aspartic acid (1.89% wb) and Leucine (1.25% wb).*

**Keywords:** natto, protein, amino acids, essential amino acids.

### PENDAHULUAN

Natto adalah makanan tradisional Jepang yang terbuat dari biji kedelai yang difermentasi dengan bakteri *Bacillus subtilis natto*, biasanya dimakan untuk sarapan bersama nasi. Bahan baku pembuatan natto adalah kedelai yang mempunyai kandungan asam amino dan senyawa isoflavon aglikon yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Isoflavon dilaporkan dapat mengurangi kerusakan DNA akibat siklofosamid (Ribeiro *et al.* 2003), menekan oksidasi lipoprotein (Takahashi *et al.* 2005), dan mengurangi resiko penyakit kardiovaskular (Rimbach *et al.* 2008). Kedelai adalah salah satu komoditas pertanian yang paling ekonomis dan berharga karena komposisi kimianya yang unik, diantara sereal dan spesies kacang-kacangan lainnya, kandungan memiliki kandungan protein tertinggi yaitu sekitar 40% dan kandungan minyak 20% (Liu, 1997). Kedelai mengandung asam amino yang diperlukan tubuh manusia, menurut Muchtadi, (2010) kandungan asam amino kedelai dalam (mg/16 gram N) adalah Isoleusin (4,54), Arginin (7,23), Leusin (7,78), Histidin (2,63), Lisin (6,38), Alanin (4,26), Metionin (1,26), Asam Aspartat (11,70), Sistin (1,33), Asam Glutamat (18,70), Metionin dan Cystein (2,59), Glisin (4,18), Fenilalanin (4,94), Prolin (5,49), Tirosin (3,14), Serin (5,12), Phenil alanin dan Tyrtophan (8,08), Treonin (3,86), Triptofan (1,28), dan Valin (4,80).

Proses pembuatan natto dilakukan melalui tahapan pembersihan dan sortasi kering, perendaman, sortasi basah, pengukusan, inokulasi

dengan *Bacillus subtilis natto*, pewadahan, fermentasi dan sortasi produk. Aroma khas natto yang kuat, teksturnya yang licin seperti lendir menyebabkan tidak semua orang menyukai natto sebagai makanan probiotik pada hal bagus bagi tubuh manusia. Bakteri *Bacillus subtilis* termasuk dalam bakteri gram-positif dan katalase-positif, berbentuk batang, dengan panjang sekitar 4-10 mikrometer ( $\mu\text{m}$ ) dan diameter 0,25-1,0  $\mu\text{m}$ , (Yu AC *et.al.* 2014). Bakteri *Bacillus subtilis* juga dapat membentuk endospora untuk bertahan hidup dalam kondisi lingkungan yang ekstrim dari suhu dan pengeringan (Madigan dan Martinko, 2005) dan termasuk jenis bakteri fakultatif anaerob (Nakano dan Zuber, 1998). Bakteri *Bacillus subtilis* dalam proses pembuatan natto dapat meningkatkan kandungan isoflavon aglikon genistein and daidzein pada kedelai hitam varieties detam 2 yang mempunyai manfaat bagi kesehatan (Hasim, *et al.*, 2015). Menurut Tien dan Ming (2010) natto mengandung gram asam amino dalam 100 gram berat kering meliputi asam glutamat (15.57), asam aspartat (9.0), Argenin (7.17), Alanin (5.65), Glysin (5.44), Serin (5.88), Prolin (7.62) dan asam amino esensial Leusin (7.36), Lysin (5.24), Isoleusin (3.34), Valin (3.57), Threonin (3.79), Tyritofan (3.74), Phenilalanin (5.02), Histidin (3.40), Cystein (0.9), dan Metionin (2.46).

### METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah natto yang diproduksi oleh Departemen

Agroindustri dan Teknik Kimia Vedca Cianjur atau PPPPTK Pertanian Cianjur. Natto dibuat dari kedelai kuning melalui tahapan pembersihan dan sortasi kering, pencucian, perendaman, sortasi basah, pengukusan, inokulasi, pewadahan, fermentasi dan sortasi produk dan pelabelan. Pembersihan dilakukan dengan cara memisahkan bahan selain kedelai sedangkan sortasi kering bertujuan untuk memisahkan kedelai yang cacat. Pencucian bertujuan untuk memisahkan kotoran yang menempel pada kedelai. Perendaman bertujuan untuk mengembangkan ukuran dan melunakan kedelai. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kedelai yang pecah dengan ukuran kecil atau kedelai cacat. Pegukusan bertujuan untuk melunakan kedelai dan membunuh mikroba yang ada pada kedelai. Inokulasi bertujuan untuk memberikan starter bakteri *Basillus subtilis natto*. Pewadahan bertujuan untuk pengisian natto pada wadah berukuran tertentu sesuai dengan permintaan pasar. Fermentasi bertujuan untuk menumbuhkan *Basillus subtilis natto* ditandai dengan terbentuknya lendir yang kokoh dan aroma khas natto. Sortasi produk bertujuan untuk memisahkan produk yang tidak sempurna atau produk yang cacat. Pelabelan bertujuan memberikan label sesuai kemasan produk termasuk pemberian masa kedaluwarsa. Analisa protein kasar natto dilakukan di Laboratorium pengujian mutu PPPPTK Pertanian Cianjur sedangkan analisa asam amino dilakukan di Laboratorium Terpadu IPB Bogor. Alat yang digunakan adalah satu unit alat preparasi sampel, satu unit alat uji protein terdiri dari alat destruksi, destilasi dan titrasi dan satu set perangkat HPLC

#### **Analisis Protein Metode Semi-mikro Kjeldahl.**

Sebanyak 0,51 gram natto yang telah dihaluskan ditimbang. Kemudian masukkan ke dalam labu kjeldahl 100 ml. Dua gram campuran selen dan 25 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat ditambahkan ke dalam labu kjeldahl yang telah berisi sampel. Kemudian dipanaskan sampai mendidih dan larutan menjadi jernih kehijauan ( $\pm 2$  jam), kemudian didinginkan dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, diencerkan dengan aquabidest sampai tanda batas. Pipet 5 ml ke labu destilasi, ditambahkan 5 ml NaOH 30% dan 3 tetes indikator PP. Destilasi selama 10 menit. Destilat ditampung 10 ml dengan asam borat 2% dan indikator campuran (BCG + metil red). Bilas ujung pendingin dengan air suling dan titrasi dengan HCl 0,01 N. Lakukan penetapan blanko.

Berdasarkan data hasil analisis V1 (volume titrasi sampel), V2 (volume titrasi blanko), N HCl (Normalitas HCl hasil distandarisasi), fk (faktor konversi), fp (faktor pengenceran), dan W (berat sampel) maka kadar protein kasar dihitung dengan formula sebagai berikut.

$$\text{Kadar Protein} = \frac{(V1 - V2)}{W} \times N \text{ HCl} \times 0,014 \times fk \times fp \times 100\%$$

#### **Analisis profil asam amino**

Analisis komposisi asam amino dilakukan dengan menggunakan HPLC. Analisis asam amino terdiri atas 4 tahap yaitu: tahap pembuatan hidrolisat protein, tahap pengeringan, tahap derivatisasi, dan tahap injeksi serta analisis asam amino. (1) Tahap pembuatan hidrolisat protein. Sampel ditimbang sebanyak 3 mg dan dihancurkan. Sampel yang telah hancur dihidrolisis asam menggunakan HCl 6 N sebanyak 1 ml yang kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 110 °C selama 24 jam. Pemanasan dalam oven dilakukan untuk menghilangkan gas atau udara yang ada pada sampel agar tidak mengganggu kromatogram yang dihasilkan. Selain itu, pemanasan dilakukan untuk mempercepat reaksi hidrolisis. (2) Tahap pengeringan. Sampel yang telah dihidrolisis pada suhu kamar dipindahkan isinya ke dalam labu evaporator 50 ml, dibilas dengan 2 ml HCl 0,01 N dan cairan bilasan dimasukkan ke dalam labu evaporator. Proses ini diulangi hingga 2-3 kali. Sampel kemudian dikeringkan menggunakan rotary evaporator selama 15-30 menit. Sampel yang sudah kering ditambah dengan 5 ml HCl 0,01 N kemudian disaring dengan kertas saring milipore. (3) Tahap derivatisasi. Larutan derivatisasi sebanyak 30 µl ditambahkan pada hasil pengeringan, larutan derivatisasi dibuat dari larutan buffer kalium borat dengan sampel 1:1 kemudian dicampurkan dengan larutan Ortoftalaldehida (OPA) dengan perbandingan 5:1 dengan sampel, selanjutnya campuran tersebut disaring menggunakan kertas saring Whatman. (4) Injeksi ke HPLC. Hasil saringan sebanyak 5 µl diinjeksikan ke dalam HPLC. Pemisahan semua asam amino ditunggu sampai selesai. Waktu yang diperlukan sekitar 25 menit. Perhitungan konsentrasi asam amino yang ada pada bahan dilakukan dengan pembuatan kromatogram standar dengan menggunakan asam amino yang telah siap pakai yang mengalami perlakuan yang sama dengan sampel. Kandungan

asam amino dalam bahan dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ Asam amino} = \frac{\text{Luas area sampel} \times C \times F_p \times \text{BM} \times 100\%}{\text{Luas area standar} \times \text{bobot sampel}}$$

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Analisis protein kasar dilakukan untuk mengetahui perkiraan jumlah relatif protein di dalam natto. Perhitungan hasil analisis kadar protein kasar natto dilakukan berdasarkan berat basah dan berat kering seperti ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis kadar protein pasha natto berdasarkan berat basah dan berat kering

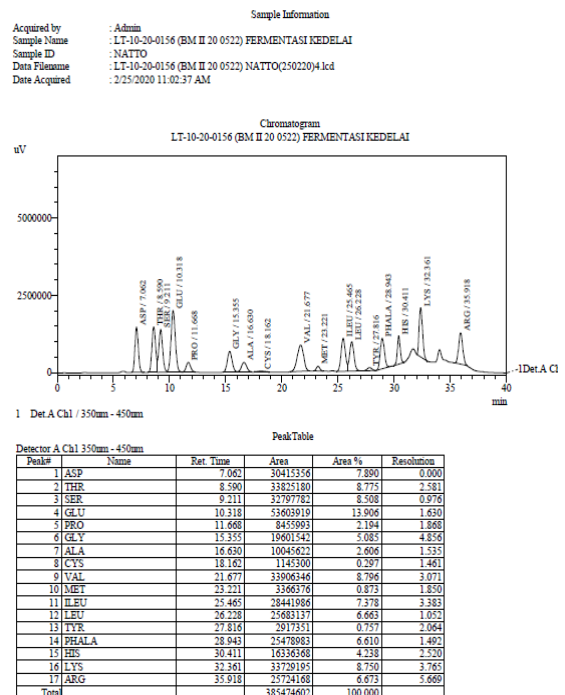
Ulangan	Kadar protein kasar berdasarkan berat basah (% wb)	Kadar protein kasar berdasarkan berat kering (% db)
1	20.1	47.7
2	19.8	46.3
3	21.0	49.8
4	19.5	48.6
Rata-rata	20.1	48.1
Standar deviasi	0.65	1.48

Berdasarkan Tabel 1 menunjukan kadar protein kasar rata-rata berdasarkan berat basah adalah 20.1 ± 0.65 % wb dan kadar protein kasar rata-rata berdasarkan berat kering adalah 48,21 ± 1.48 % wb. Hasil penelitian tersebut mendekati hasil penelitian (Pradhananga, 2019), disebutkan bahwa kadar protein dari natto putih berdasarkan berat kering adalah 48.22 ± 0.121%db. Jika dibandingkan dengan kadar protein kedelai berdasarkan perhitungan berat basah kadar protein natto mengalami penurunan hal itu disebabkan karena tingginya kadar air dalam natto mencapai 57%. Kadar protein kedelai adalah 39% wb atau 42,48% db (Pradhananga, 2019), Kadar protein natto berdasarkan berat kering dibandingkan dengan kadar protein kedelai menunjukkan perbedaan namun tidak terlalu jauh.

Analisis komposisi asam amino dilakukan untuk mengetahui jenis asam amino esensial dan asam amino non esensial dari natto. Data komposisi asam amino natto disajikan dalam dua jenis yaitu berdasarkan berat basah (wb) dan berdasarkan berat kering (db). Data komposisi asam amino natto dapat dilihat pada Tabel 2 sedangkan kromatogram dan luar area asam amino natto disajikan pada Gambar 1.

Tabel 2. Komposisi lima belas asam amino dalam natto

Jenis Asam amino	% wb	% db
<b>Asam amino esensial</b>		
1. Histidin	0.46	1.09
2. Leusin	1.25	2.96
3. Treonin	0.59	1.40
4. Valin	0.81	1.92
5. Metionin	0.13	0.31
6. Isoleusin	0.76	1.80
7. Fenilalanin	0.87	2.06
<b>Asam amino non esensial</b>		
1. Asam aspartat	1.89	4.48
2. Serin	0.72	1.71
3. Glutamat	3.62	8.59
4. Glisin	0.65	1.54
5. Alanin	0.67	1.59
6. Tirosin	0.3	0.71
7. Lisin	0.83	1.97
8. Arginin	0.91	2.16
Jumlah	14,46	



Gambar 1. Kromatogram dan luas area analisis jenis asam amino dalam natto

Berdasarkan data Tabel 2 dan Gambar 1 ternyata empat komposisi asam amino tertinggi pada natto yaitu glutamat (8,59 %db), asam aspartat (4.48 %db), leusin (2,96 %db) dan Argenin (2.16%db). Empat komposisi empat asam amino tertinggi yang sama juga didapatkan

pada kedelai. Menurut Muchtadi (2010) empat komposisi asam amino tertinggi dalam mg/16 gram N pada kedelai adalah Glutamat (18,70), Asam Aspartat (11,70), Leusin (7,78), dan Arginin (7,23). Hasil penelitian komposisi asam amino tertinggi dalam natto yang didapatkan dalam penelitian ini hampir sama dengan hasil penelitian Tien dan Ming (2010) yang menyatakan lima asam amino tertinggi didapatkan hasil analisis pada natto dalam satuan gram per 100 gram berat kering adalah asam glutamat (15.57), asam aspartat (9.0), Leusin (7.36), Arginin (7.17), dan Prolin (7.62).

### KESIMPULAN

Hasil analisis natto menunjukkan bahwa natto mengandung protein kasar rata-rata 22,1% dan kadar asam amino rata-rata sebesar 14,46%. Hasil analisis 15 asam amino rata-rata dalam natto dengan KCKT menunjukkan bahwa persentase berat basah asam amino esensial yaitu Histidin (0,46% wb), Leusin (1,25% wb), Treonin (0,59% wb), Valin (0,81% wb), Metionin (0,13% wb), Isoleusin (0,76% wb), Fenilalanine (0,87% wb) dan asam amino non esensial yaitu Serin (0,72% wb), Asam Aspartat (1,89% wb), Arginin (0,91% wb), Lisin (0,83 % wb), Glutamat (3,62% wb), Glisin (0,65 % wb), Alanin (0,67% wb), dan Tirosin (0,3% wb). Glutamat merupakan asam amino dengan kadar tertinggi (3,62% wb), diikuti dengan, Asam aspartat (1,89% wb) dan Leusin (1,25% wb)

### DAFTAR PUSTAKA

- Hasim, Astuti, P., Falah, S. dan Faridah, D.N (2015). *Bacillus subtilis natto* fermentation to improve aglycone isoflavones content of black soybean varieties detam 2. *International Food Research Journal* 22(6): 2558-2564.
- Liu, K.S. 1997. Chemistry and Nutritional Value of Soybean Components. In *Soybean: Chemistry, Technology, and Utilization*, Chapman & Hall, New York, 25-113.
- Muchtadi D., 2010. Kedelai Komponen Untuk Kesehatan. Alfabeta. Bandung. 177-186
- Madigan M, Martinko J, ed. (2005). *Brock Biology of Microorganisms* (edisi ke-11th). Prentice Hall. ISBN 0-13-144329-1.
- Nakano MM, Zuber P (1998). "Anaerobic growth of a "strict aerobe" (*Bacillus subtilis*)". *Annual Review of Microbiology*. 52 (1): 165–90.
- Pradhananga M., 2019. Effect of processing and soybean cultivar on natto quality using response surface methodology *Food Sci Nutr*. 2019;7:173–182.
- Ribeiro MLL, Mandarino JMG, Panizzi MCC, de Oliveira MCN, Campo CBH, Nepomuceno AL, Ida EI. 2007. Isoflavone content and  $\beta$ -glucosidase activity in soybean cultivars of different maturity groups. *J Food Compst Analys*. 20: 19-24.
- Rimbach G, Boesch-Saadatmandi C, Frank J, Fuchs D, Wenzel U, Daniel H, Hall W L, Weinberg P D. 2008. Dietary isoflavones in the prevention of cardiovascular disease – Amolecular perspective. *Food Chem Tox*. 46:1308–1319
- Takahashi R, Ohmori R, Kiyose C, Momiyama Y, Ohsuzu F, Kondo K. 2005. Antioxidant activities of black and yellow soybeans against low density lipo- protein oxidation. *J.Agric Food Chem* 53: 4578-4582.
- Tien M. W. dan Ming T., 2010. Changes of Protein in Natto (a fermented soybean food) Affected by Fermenting Time. *Food Sci. Technol. Res.*, 16 (6), 537–542
- Yu AC, Loo JF, Yu S, Kong SK, Chan TF (January 2014). "Monitoring bacterial growth using tunable resistive pulse sensing with a pore-based technique". *Applied Microbiology and Biotechnology*. 98 (2): 855–6